

LA

MÉTHODE DES SACS DE COLLODION

APPLIQUÉE A L'ÉTUDE DU

BACILLE D'EBERTH ET DU BACILLE COLI

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue à la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 19 Juin 1900

PAR

Evstraty S. GUÉCHOFF

Né à Pilippopoli (Bulgarie), le 13 novembre 1875

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE



MONTPELLIER

IMPRIMERIE CHARLES BOEHM

DELORD-BOEHM ET MARTIAL SUCCESSIONS

Éditeurs du Nouveau Montpellier médical

1900

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. VIALLETON..... DOYEN
HAMELIN (*)..... ASSESSEUR

PROFESSEURS :

Hygiène.....	MM. BERTIN-SANS(桑)
Clinique médicale.....	GRASSET (桑).
Clinique chirurgicale.....	TEDENAT.
Clinique obstétricale et Gynécologie.....	GRYNFELT.
Thérapeutique et Matière médicale.....	HAMELIN (桑).
Clinique médicale.....	CARRIEU.
Clinique des maladies mentales et nerveuses.....	MAIRET (桑).
Physique médicale.....	IMBERT.
Botanique et Histoire naturelle médicale.....	GRANEL.
Clinique chirurgicale.....	FORGUE.
Clinique ophtalmologique.....	TRUC.
Chimie médicale et Pharmacie.....	VILLE.
Physiologie.....	HEDON.
Histologie.....	VIALLETON.
Pathologie interne.....	DUCAMP.
Anatomie.....	GILIS.
Opérations et Appareils.....	ESTOR.
Microbiologie.....	RODET.
Médecine légale et Toxicologie.....	SARDA.
Clinique des maladies des enfants.....	BAUMEL.
Anatomie pathologique.....	N....

id.

Bosc (Chargé du Cours)..

Doyen honoraire : M. MAIRET (桑).

Professeurs honoraires : MM. JAUMES, DUBRUEIL (桑), PAULET (O. 桑).

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

Accouchements.....	MM. PUECH, agrégé.
Clinique ann. des mal. syphil. et cutanées....	BROUSSE, agrégé.
Clinique annexe des maladies des vieillards....	VIRES, agrégé.
Pathologie externe.....	LAPEYRE, agrégé.
Pathologie générale.....	RAUZIER, agrégé.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. BROUSSE.	MM. DE ROUVILLE.	MM. GALAVIELLE.
RAUZIER.	PUECH.	RAYMOND.
LAPEYRE.	VALLOIS.	VIRES.
MOITESSIER.	MOURET.	IMBERT.
BOSC.	DELEZENNE.	H. BERTIN-SANS.

MM. H. GOT, Secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. RODET, président.		MM. MOITESSIER, agrégé.
HEDON, professeur.		GALAVIELLE, agrégé.

La Faculté de Médecine de Montpellier déclare que les opinions émises dans les Dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur ; qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

*Faible témoignage de reconnaissance
et d'amour filial.*

A MES FRÈRES ET SŒURS

E. S. GUÉCHOFF.

A MON PRESIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur **RODET**

PROFESSEUR DE MICROBIOLOGIE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DIRECTEUR DE L'INSTITUT BOUISSON-BERTRAND

E. S. GUÉCHOFF.

INTRODUCTION

Les expériences qui constituent notre thèse inaugurale ont pour but d'étudier l'action du bacille d'Eberth et du bacille-coli par la méthode des sacs de collodion.

Il nous semble que cette méthode n'a pas encore été appliquée à l'étude de ces bacilles. Elle nous a été inspirée par M. le professeur Rodet, qui, en nous admettant dans son laboratoire, s'est montré d'une grande bienveillance à notre égard.

Nos expériences ont été faites sous son contrôle direct ; il n'a ménagé ni son temps, ni ses conseils pour nous être utile et pour nous instruire. Aussi, sommes-nous heureux de pouvoir lui adresser ici l'expression de notre vive gratitude et de le remercier du grand honneur qu'il nous fait en acceptant la présidence de notre thèse.

A la veille de quitter cette Faculté, qu'il nous soit permis d'adresser nos remerciements à tous nos maîtres, auxquels nous devons les connaissances médicales que nous possédons.

M. le docteur Poujol, chef du service antidiphthérique à l'Institut Bouisson-Bertrand, peut être assuré que nous n'oublierons jamais que c'est lui qui nous a initié aux exercices de laboratoire.

LA
MÉTHODE DES SACS DE COLLODION

APPLIQUÉE A L'ÉTUDE DU

BACILLE D'EBERTH ET DU BACILLE COLI

CHAPITRE PREMIER

Historique

Dans les premières années de la connaissance du bacille d'Eberth-Gaffky, plusieurs expérimentateurs se sont assurés que les cultures de ce bacille, injectées dans les veines ou le péritoine des animaux de laboratoire, sont douées d'un pouvoir infectant, et que le bacille d'Eberth est capable de provoquer une maladie infectieuse analogue à la fièvre typhoïde de l'homme. D'autres auteurs, entre autres Sirotinin, refusent l'action infectieuse du bacille, et ils attribuent la maladie expérimentale qu'ils obtiennent aux ptomaines contenues dans les cultures. Sirotinin arrive à cette conclusion des expériences qu'il a faites avec des cultures stérilisées par la chaleur ou la filtration. Il accorde aux cultures vivantes et aux cultures stérilisées un égal pouvoir toxi-

que. Cette dernière donnée n'est guère admise aujourd'hui par la plupart des bactériologistes. On s'accorde à reconnaître que les cultures, dont les bacilles sont tués par la chaleur sont, en effet, toxiques, mais d'une activité sensiblement moindre que les cultures vivantes.

Quant aux cultures filtrées, il est également universellement reconnu qu'elles sont douées d'une faible toxicité, laquelle se montre très variable d'une culture à l'autre.

L'interprétation qui domine à propos de ce dernier fait, c'est que la toxine typhique serait fixée sur les corps bacillaires. M. Rodet a fait quelques expériences pour élucider ce point, et il arrive à croire que, contrairement à ce que pensent les auteurs, les produits actifs du bacille diffusent réellement dans les milieux des cultures, et qu'il ne faut pas chercher là la faible activité des produits de fabrication. Il attribue aux corps bacillaires la propriété pyogène et, aux produits solubles, les propriétés pyrétogène, vasodilatatrice, phlogogène et sphacélisante. En dernier lieu, disons que « ces produits solubles diffusés dans les bouillons de culture des bacilles d'Eberth sont puissamment favorisants à l'égard des bacilles vivants » (Rodet).

On voit que la toxine du bacille d'Eberth se trouve dans le bouillon ordinaire en quantité qu'on ne peut pas utiliser. Aussi s'est-on beaucoup attaché, dans ces dernières années, à trouver des milieux nutritifs un peu spéciaux ou des conditions particulières où le bacille d'Eberth puisse laisser et diffuser des toxines plus actives.

M. Sanarelli tue par la chaleur les cultures en bouillon et les conserve dans cet état plusieurs semaines, puis les filtre, comptant sur cette macération prolongée pour faire diffuser dans le liquide la toxine contenue dans les corps bacillaires.

M. Chantemesse utilise une macération à froid de rate et de moelle osseuse, additionnée d'une petite quantité de sang

humain défibriné. Selon lui, le produit de filtration à travers la porcelaine se montre toxique pour les animaux, et il serait toxique au maximum du cinquième au sixième jour, puis la toxicité diminuerait pour disparaître au quinzième jour.

M. Rodet a obtenu de rehausser la virulence et la toxicité des cultures des bacilles d'Eberth et coli, en se servant, comme milieu de culture, des bouillies de rate. Il conclut que « les bouillies, c'est-à-dire les milieux de cultures composés en partie de liquide, en partie de solide, spécialement les bouillies spléniques, sont particulièrement favorables à l'activité des cultures des bacilles d'Eberth et coli; s'il s'agit d'expérimenter sur le pouvoir infectant des cultures complètes, les bouillies stérilisées sans putréfaction sont indiquées; mais un certain degré de putréfaction de ces milieux est favorable à l'obtention des produits toxiques ».

Il résulte des études faites sur les cultures complètes aussi bien que sur les cultures chauffées ou filtrées du *bacillus coli communis*; qu'elles possèdent des propriétés à peu de chose près les mêmes que celles des cultures du bacille d'Eberth. Ceci ne doit pas nous surprendre, vu la parenté de ces deux bacilles, admise par la majorité des bactériologistes, parenté très proche qui arrive à en faire deux variétés appartenant à la même espèce (Rodet et Roux).

On s'accorde à trouver les toxines du coli secrétées dans les milieux habituels, peu actives, très variables comme les toxines typhiques. « La toxicité des produits solubles du bacille d'Escherich est, comme sa virulence, sujette à des variations étendues » (Gilbert). Roger a vu les toxines colien-nes frapper chez la grenouille la moelle, le cœur, les muscles. Mentionnons aussi l'action favorisante des toxines à l'égard du coli.

Pour en augmenter le rendement toxique, nous avons vu plus haut que M. Rodet utilise les bouillies de rate, surtout

des bouillies en putréfaction si l'on veut obtenir des produits solubles plus actifs.

Celli et Valenti précipitent des cultures en bouillon au moyen de l'alcool, et ils obtiennent, sous forme d'un mélange de protéine et de toxine, une substance virulente qui leur a servi à des essais d'immunisation.

Nous avons passé en revue dans le chapitre précédent les effets des toxines des bacilles d'Eberth et Coli, les interprétations qu'en ont données les expérimentateurs sur la part à faire à l'intoxication et à l'infection, et les différents moyens employés pour augmenter le rendement toxique. L'idée générale qui en découle, c'est que dans aucun cas on n'a eu un produit toxique très actif.

M. le professeur Rodet a été porté à supposer que « dans l'organisme ces bacilles fabriquent un produit toxique très différent de celui des cultures, peut-être par le mécanisme indirect de la fermentation, hypothèse rendue vraisemblable par les propriétés xymotiques des bacilles en question et le caractère des lésions que les tissus subissent de leur part ou de la part de leurs produits solubles »¹.

C'est en partant de cette idée que nous avons entrepris, sous la direction de notre maître, quelques recherches en vue d'étudier cette question.

Nous nous sommes servi, pour opérer nos expériences, de la méthode des sacs en collodion — méthode introduite dans l'expérimentation depuis le remarquable mémoire de MM. Metchnikoff, Roux et Taurelli-Salimbeni, paru dans les *Annales de l'Institut Pasteur*, 1896.

Cette méthode n'a pas été ou a été très peu expérimentée pour le bacille d'Eberth et Coli.

¹ Voir index bibliographique.

Exposons tout d'abord ce qu'on sait sur les phénomènes qui se passent à travers la paroi de collodion d'un sac introduit dans le péritoine de l'animal, puis nous donnerons les résultats de différents expérimentateurs qui se sont servis de cette méthode.

La paroi de collodion offre une barrière infranchissable aux microbes comme aux éléments figurés ; les microbes ne peuvent sortir du sac, mais ils peuvent s'y multiplier en toute sécurité, car, les cellules ne pouvant y pénétrer, ils sont à l'abri de la phagocytose. D'autre part, cette paroi, inaccessible aux microbes et aux cellules, est perméable aux liquides comme aux substances dissoutes : elle forme une paroi osmotique parfaite ; à son niveau s'établissent des échanges qui modifient profondément la composition primitive du liquide emprisonné ; ainsi les substances élaborées par les bacilles peuvent diffuser au dehors, et, si elles sont suffisamment actives, elles entraînent la mort du sujet ou provoquent des accidents d'intoxication plus ou moins accusés sans qu'un seul microbe ait envahi les tissus, lesensemencements stériles des humeurs et de la pulpe des organes en sont la preuve irréfutable.

Nous verrons dans un chapitre à part ce que nous pensons sur les propriétés physiques de la paroi du sac.

Les auteurs qui se proposaient d'étudier une culture quelconque et qui ont employé à ce but précisément les sacs en collodion, ont surtout visé, les uns, les produits toxiques de ces microbes, les autres les microbes eux-mêmes, soit en vue des modifications possibles de morphologie ou de propriétés, soit pour laisser pleine liberté aux microbes de se multiplier en empêchant l'action des éléments figurés du sang, soit enfin pour l'étude des virus difficiles à analyser.

Dans le premier groupe de faits nous avons à enregistrer les expériences de MM. Metchnikoff, Roux et Taurelli-Salim-

beni sur la toxine et antitoxine cholérique. Ils préparent un sac en collodion de 3 à 4 centim. cubes de capacité rempli avec une solution de peptone à 2 % ensemencée avec une trace de vibrion cholérique virulent. Dans un deuxième sac ils mettent le même liquide dans lequel on a délayé deux cultures entières de vibrions sur gélose, après avoir tué les microbes au moyen des vapeurs de chloroforme suivant le procédé de M. Pfeiffer; après quoi ils introduisent ces sacs exactement fermés dans le péritoine de deux cobayes de même poids. Un troisième cobaye reçoit un sac de même dimension, mais ne contenant que du bouillon stérile. Le cobaye témoin est en bonne santé. Celui qui a le sac aux vibrions morts présente, les jours suivants, une légère élévation de température et un peu d'amaigrissement. Quant au cobaye porteur de sac, ensemencé avec les vibrions vivants, il a, déjà après vingt-quatre heures, une élévation de température de 1°, il ne mange plus, il perd sa vivacité. Le deuxième jour, le ventre est légèrement distendu et l'hypothermie commence, les extrémités deviennent froides, l'animal reste inerte, et il succombe du 3^e au 5^e jour, avec tous les signes de l'empoisonnement cholérique. A l'autopsie, on a sous les yeux les lésions ordinaires de l'infection cholérique. Mais ni la sérosité péritonéale, ni le sang du cœur, ni la pulpe des organes ne contiennent aucun vibrion, tous les ensemencements restent stériles. Le sac de collodion est rempli d'un liquide laiteux, fourmillant de vibrions, sans aucun leucocyte. « L'interprétation de cette expérience ne laisse aucun doute. Le vibrion a cultivé dans le sac sans passer dans le corps du cobaye, et il a produit un poison soluble, qui a diffusé à travers la paroi du collodion. Les vibrions morts, placés en quantité dans les mêmes conditions, ne donnent pas d'empoisonnement aigu. Celui-ci est donc bien causé par la toxine diffusée pendant la période de vie active des

vibrions ». Cette expérience montre d'une façon péremptoire, l'existence du poison cholérique soluble. Aussi ces auteurs se rangent-ils à l'école de Behring, qui admet un poison soluble secrété par le bacille-virgule et diffusible de son vivant.

Par des passages alternatifs en sac et en péritoine, le vibron cholérique prend une virulence si grande, que le contenu d'un sac tue un cobaye moyen avec 1/160 de centim. cube inoculé dans la cavité abdominale.

Au second groupe nous devons citer les intéressantes expériences de M. Nocard sur le bacille de la tuberculose humaine. Nocard emplit ses sacs d'une émulsion épaisse de culture jeune de bacilles de la tuberculose humaine, obtenue de préférence sur une pomme de terre glycérinée; il les ferme exactement et les introduit dans la cavité péritonéale de la poule. Ces gallipèdes n'en paraissent pas incommodés. Il n'ouvre les sacs qu'après un délai minimum de quatre mois, prétendant que plus est longue la durée de séjour dans le péritoine, plus sont accusées les modifications éprouvées par le bacille; enfin il a le soin d'opérer à chaque fois sur un assez grand nombre de sujets, la rupture du sac étant d'autant plus à craindre que l'expérience doit se prolonger davantage. Quand le sac a séjourné longtemps dans le péritoine de la poule, il a vu que les cultures qu'on obtient avec le contenu du sac offrent tous les caractères du type aviaire; elles sont molles, grasses, onctueuses, plissées, s'étalant aisément sur tous les milieux. Il en conclut que les caractères du bacille originel se sont profondément modifiés au contact des humeurs de la poule. Quant à la virulence, le contenu du sac était capable de tuer le cobaye et le lapin et impuissant pour la poule. Seulement au troisième passage (le contenu ayant passé trois fois en sac dans le péritoine de la poule), la poule elle-même ne résistait plus

contre la culture du contenu du sac. Ainsi Nocard a obtenu avec les sacs en collodion de transformer le bacille de la tuberculose humaine en bacille de la tuberculose aviaire. Les expériences de Nocard apportent une importante confirmation à l'identité spécifique des bacilles humain et aviaire.

Nous pouvons placer ici l'emploi qu'on a fait de divers côtés de sacs imperméables pour exalter la virulence des microbes. Ainsi M. Vallée accroit la virulence du bacille du rouget en le faisant séjourner dans des sacs imperméables dans le péritoine du lapin. Il observe alors que ses lapins maigrissent lentement, deviennent squelettiques et meurent dans quelques semaines, empoisonnés par les toxines secrétées dans le sac. Quelques-uns survivent cependant ; alors ils sont fortement immunisés et résistent parfaitement à l'inoculation d'une dose mortelle pour les témoins. C'est un nouvel exemple d'immunisation par les toxines.

L'auteur a vu que le bacille du rouget, dont il s'est servi pour ensemençer le sac, tuait le pigeon en quatre jours à la dose de 1 cent. cub. Après huit jours de culture en sac, il tuait en 48 heures à la même dose et dans les mêmes conditions.

M. Chantemesse, de son côté, dit que le séjour du bacille d'Eberth pendant 24 heures enfermé dans des sacs de collodion dans le péritoine du cobaye accroit sa virulence.

Dans la même année parut le travail de MM. Nocard et Roux sur le microbe de la péripneumonie (bovine). Ces auteurs ont pensé que la sérosité péripneumonique enfermée dans un sac de collodion et logée dans la cavité péritonéale du lapin trouverait peut-être un milieu qui lui serait favorable, grâce aux modifications que subit le liquide du sac, dans lequel elle donnerait une culture dont le microbe serait différencié — chose qui n'est guère possible dans une cul-

ture *in vitro*. Les résultats de leurs expériences leur ont donné pleine satisfaction.

Ils ensemencent des sacs en collodion remplis de bouillon avec une trace de sérosité péripneumonique. Après un séjour de quinze jours dans le péritoine du lapin, ils contiennent un liquide opalin, un peu louche. Ce liquide ne renferme ni cellules, ni bactéries cultivables sur les milieux usuels. En revanche, l'examen microscopique y montre à un très fort grossissement une infinité de petits points réfringents et mobiles, d'une grande ténuité, ces petits points mobiles et réfringents sont des êtres vivants qui ont pullulé à la faveur des modifications subies par le liquide du sac, et grâce à l'obstacle opposé par la paroi du collodion à l'action phagocytaire. Ce qui le prouve, c'est que, si l'on emploie le chauffage sur ce liquide sorti du sac, il ne donne plus de culture dans un autre sac : le chauffage a tué les germes. L'autopsie ne révèle aucune lésion organique appréciable, le sang et la pulpe des organes ne donnent pas de culture. Il s'agit donc, selon toute probabilité, d'une intoxication. Les auteurs font remarquer que la culture extraite du sac ne donne aucune culture quand on la réensemence sur les milieux usuels. Au contraire, du bouillon qui a passé par sac en péritoine lui est très favorable et peut servir pour une culture *in vitro*. Encouragés par ces résultats, ces auteurs espèrent qu'on pourrait réussir également dans l'étude de tel autre virus dont le microbe est resté jusqu'à présent inconnu.

Nous devons mentionner, en dernier lieu, l'existence des sacs dont se sont servis quelques expérimentateurs, mais fabriqués d'une autre substance que le collodion. La matière de ces sacs est fournie par la membrane qui tapisse la cavité intérieure des roseaux. Cette membrane, tout comme la paroi mince de collodion, est imperméable aux microbes

comme aux cellules, et la diffusion s'y accomplit très suffisamment, comme l'ont démontré MM. Melchnicoff et Podbelsky.

Dans son travail, Podbelsky s'est demandé à quoi est due la substance sporicide du sérum normal frais des lapins.

Est-elle due au plasma sanguin ou aux leucocytes qui, en se détruisant pendant la coagulation, laissent diffuser dans le serum ladite substance? Pour trouver la vraie cause il a employé des sacs en membrane de roseaux, qui présentent précisément toutes les conditions nécessaires pour la solution du problème: élimination des leucocytes et passage libre des substances dissoutes dans le plasma. Il ensemence un sac rempli de 1,5 cc. d'eau physiologique avec le bacille subtilis. Au bout de dix à quinze jours, on trouvait le sac entouré d'une couche épaisse de leucocytes et fort comprimé. L'examen du contenu du sac montrait une grande quantité de bactéries et une quantité suffisante de spores. Les ensemencements du contenu du sac sur gélose étaient toujours suivis d'une abondante culture de bacille subtilis. Il conclut que la substance sporicide provient des leucocytes.

CHAPITRE II

Technique

Avant de passer à l'exposé de nos expériences, disons quelques mots concernant la technique de la méthode.

Nous nous sommes servi, pour la moitié de nos expériences, de sacs de commerce que nous recevions de Paris ; ils sont constitués par une mince membrane de collodion et fixés par une ligature à un court tube de verre qui peut être exactement fermé par un bouchon de caoutchouc ; ces sacs, d'une capacité de 3 à 4 c. c., sont stérilisés enfermés dans des tubes et dès lors prêts à servir.

Pour les autres expériences, nous avons construit des sacs nous-même, utilisant soit le collodion pur du Codex, soit mélangé à du collodion riciné : ils diffèrent des premiers par leur tubulure, qui, effilée à l'extrémité, peut être facilement fermée à la lampe.

Afin de nous assurer de la parfaite intégrité des sacs, nous les plongeons dans l'eau après les avoir gonflés d'air ; de cette manière la moindre fissure donnerait quelques bulles qui la feraient découvrir. Ainsi préparés, nous les soumettons dans l'autoclave pendant une demi-heure à une température de 115°.

Nos expériences portent sur des lapins et des cobayes. L'animal, couché sur le dos, est fixé sur la planche à expé-

rience ; après lui avoir rasé les poils sur une certaine étendue de l'abdomen et fait l'asepsie du champ opératoire, on soumet le sujet au chloroforme et, dès que l'anesthésie est obtenue, on pratique sur la ligne blanche une incision longue de 3 à 4 c. ; par la plaie ainsi obtenue, on introduit dans la cavité péritonéale, de préférence dans un hypochondre, un sac rempli de la culture sur laquelle doit porter notre étude. Cela fait, on referme le ventre au moyen de sutures, et l'animal est mis en observation.

On remplit le sac, soit avec de la culture faite, soit avec du bouillon qu'onensemence à l'instant même avec une culture de 24 ou 48 h., soit enfin avec de l'eau salée stérilisée ensemencée dans les mêmes conditions. Le sac rempli, on ferme facilement la tubulure.

Dès qu'un sujet vient à mourir, on lui fait l'autopsie. Le premier soin est de recueillir aseptiquement la sérosité péritonéale, le sang du cœur et de les ensemençer sur un milieu nutritif, qu'on met à l'étuve. Ceci fait, on retire avec précaution le sac, dont on détruit la paroi au fer rouge pour examiner son contenu au point de vue de la richesse bacillaire, de ses modifications possibles, de la présence des éléments anormaux, tels que leucocytes, etc. En dernier lieu, on examine les différents organes dont on note les lésions existantes.

Nous divisons nos expériences en deux séries : 1° expériences faites avec le bacille d'Eberth, soit avec des cultures faites, soit avec ensemencement extemporané, sur les lapins et sur les cobayes ; 2° expériences faites avec le bacille coli également sur des lapins et cobayes, et dans les mêmes conditions.

Au cours de nos expériences, nous avons employé plusieurs races de bacilles d'Eberth ou de bacilles coli. Elles ont été toutes isolées au laboratoire, où l'on a expérimenté leur virulence.

EXPÉRIENCES FAITES AVEC LE BACILLE D'EBERTH

LAPINS

A. CULTURE FAITE

Expérience 1

Le 29 décembre 1899, on introduit dans le péritoine d'un lapin de 2070 grammes un sac de collodion contenant 1,5 cc de culture d'Eberth R 72 h. La température oscille entre 40 et 40°8 les sept premiers jours.

Cinq jours plus tard, on recueille le sang en vue de la séro-réaction, avec le bacille d'Eberth, étalon du laboratoire.

A 1/20 :

2 heures après, précipité en formation, commencement d'éclaircissement.

20 heures après, précipité abondant, caractéristique ; clarification complète.

A 1/50 :

2 heures après, flocons indiquant la prochaine formation du précipité.

20 heures après, précipité abondant, moins qu'au 20^e.

A 1/100 :

Après 20 heures, précipité caractéristique, clarification moyenne.

1/200 :

Léger précipité.

1/500 :

Rien. — L'examen microscopique confirme l'examen macroscopique.

Sacrifié le 18 janvier. A l'autopsie, on trouve l'intestin légèrement congestionné; la rate est augmentée de volume. Viscères normaux. Le sac est entouré d'une première couche caséuse et d'une seconde extérieure fibreuse. Le contenu du sac est examiné entre lame et lamelle; on voit de petites granulations animées de mouvement brownien et pas de bacilles bien nets. L'ensemencement sur agar donne une couche mince, étalée, transparente. A l'examen microscopique, morphologie du bacille d'Eberth; ce bacille n'acidifie pas le bouillon lactosé. Le contenu du sac est injecté intégralement sous la peau d'un cobaye qui survit.

Le sang est stérile. Une seconde épreuve de séro-réaction faite avec le sang recueilli après la mort démontre que le pouvoir agglutinatif du sérum s'est accru; léger dépôt au tube de 1/500, tandis qu'à ce titre il était négatif dans la première épreuve faite pendant la vie de l'animal.

Expérience II

29 janvier. Lapin de 1.500 grammes. Reçoit un sac rempli de culture d'Eberth, ayant déjà passé par un sac. La température oscille entre 40° et 40°6 pendant 9 jours, avec de la diarrhée pendant 6 jours, pour disparaître ensuite.

Le 8 février, le pouvoir agglutinatif de son sang fait voir un léger précipité douteux à 1/50 et 1/100.

Comme il commence à augmenter de poids, il est sacrifié le 20 février. Rien d'anormal à l'autopsie. Le sac est entouré d'une membrane fibrineuse surtout marquée à la face postérieure du sac. La culture au contenu donne des bacilles à morphologie d'Eberth et ne faisant pas fermenter le lactose. La culture du sang est fertile au bout de 48 heures; elle est constituée par des bacilles de forme indécise qui

diffèrent nettement avec ceux du contenu. Cette culture possède une réaction alcaline, cela confirme qu'il ne s'agit pas du bacille contenu dans le sac. Il s'agit donc d'une infection secondaire.

Expérience III

Lapin de 2.110 grammes. Le 9 mars. Reçoit un sac rempli de culture d'Eberth R de 48 h., provenant du sac de l'expérience précédente. Temp. 40° et 40°2, pendant quatre jours et forte diarrhée.

Trouvé mort le 14. Intestin grêle légèrement congestionné avec des matières liquides ; trois ou quatre plaques de Peyer augmentées de volume. La culture du contenu est impure : au microscope on voit de nombreux bacilles à spores (subtilis). Les cultures de la sérosité péritonéale et du sang donnent des bacilles qui, au point de vue morphologique, peuvent être de l'Eberth ou du coli, mais qui font virer au rouge le bouillon lactosé.

Expérience IV

Le 22 mars. Lapin de 2.370 grammes. Sac contenant 2,5 cent. cubes de culture d'Eberth R de même provenance que le précédent. Température entre 39°6 et 40°3, diarrhée pendant 3 jours ; il maigrit et ne pèse que 1780 grammes.

Mort le 29. A l'ouverture de l'abdomen, on trouve le sac plongé dans une véritable niche de pus ; des trainées purulentes s'étendent au loin. Il est vide, plissé sur lui-même avec des coutures brusques. Le peu de liquide qu'on trouve dans le fond du sac est lactescent, ce qui fait penser de suite à l'existence de globules blancs. En effet, l'examen

microscopique fait voir des éléments bacillaires, identiques, bien conformés et 2° des leucocytes, certains d'entre eux présentant le phénomène de phagocytose (des bacilles englobés dans le sein du protoplasma des globules blancs.). Les cultures de la sérosité péritonéale, du contenu du sac, du sang et de la pulpe du foie sont toutes fertiles. L'examen de la culture de la sérosité démontre l'existence de bacilles courts, identiques à l'Eberth. Le sac a dû se rompre pendant la vie de l'animal, d'où la présence des globules blancs dans le sac et la fertilité des humeurs.

Expérience V

Le 3 avril, lapin de 2820 gram. Reçoit sac contenant 2,5 cent. cub. de culture d'Eberth 1, 48 heures. Etat général médiocre cinq jours après l'opération.

Prise de sang sept jours après en vue de la séroration ; l'épreuve est faite le 12 sur Eberth 1 de série. A 1/20 après 24 h., belle agglutination ; encore assez belle à 1/50 ; très légère à l'œil nu à 1/100.

Mort le 10 avril. Autopsie. Rien d'anormal aux viscères. Le sac est entouré d'une très grande quantité de pus ; on voit sur place les fissures de la paroi du sac ; la rupture est donc certaine.

B. ENSEMENCEMENT EXTEMPORANÉ

Expérience VI

Le 13 mars, un lapin pesant 1.900 gram. reçoit dans la cavité péritonéale un sac de collodion contenant 1 cc. 5 d'eau saléeensemencée extemporanément avec Eberth R. Il est mis en observation. Les jours suivants, il a une température qui oscille entre 39°3 et 39°8, sans diarrhée, tout

d'abord, pour en présenter seulement une dizaine de jours après. L'animal maigrit beaucoup (p. = 1470) et meurt le 12 mai.

A l'autopsie, on trouve le sac loin de son lieu d'introduction, enveloppé d'une première couche caséeuse, doublée elle-même d'une membrane fibrineuse. L'intestin est congestionné, contient du liquide diarrhéique. Le rein gauche frappe par sa couleur pâle et par quelques taches ecchymotiques. A la coupe, on trouve une congestion intense disséminée sur la zone corticale, tandis que la zone papillaire contraste par sa pâleur. Le foie est dur à la coupe, d'une couleur normale. Il est probable que ces deux viscères présentent des lésions microscopiques. Voici, du reste, ce qu'a révélé l'examen microscopique des coupes histologiques que nous avons pratiquées. *Foie* : les vaisseaux capillaires des lobules sont très dilatés ; les travées cellulaires ont un diamètre bien moindre que le diamètre de ces vaisseaux. Dans les vaisseaux, on voit de nombreux leucocytes. Les cellules qui forment les lobules n'ont que rarement leur contour bien distinct, et leurs noyaux se colorent d'une façon inégale. *Rein* : rien de particulier aux glomérules ; dans les tubes contournés l'épithélium est manifestement altéré, déformé, et en nombreux points la lumière est remplie de débris d'épithélium.

La sérosité péritonéale,ensemencée sur agar-agar, reste stérile. Le sang donne une culture, constituée par des bacilles, mais très pauvre ; reproduite, elle n'a pas cultivé. Celle du contenu du sac est abondante. A la dose de 1 centim. cube le contenu du sac est injecté sous la peau d'un cobaye, qui meurt en 6 jours.

13 jours après l'opération, il a été fait une prise de sang à ce lapin, en vue de la séro-réaction, avec Eberth R. étalon. Après 24 heures, dépôt pas très considérable au tube de 1/50, avec une clarification insignifiante ; rien au 1/100.

EXPÉRIENCES SUR LES COBAYES

CULTURES FAITES

Expérience VII

Cobaye de 640 gram. Le 22 mars, on loge dans la cavité péritonéale de ce cobaye un sac contenant 1 c. c. 5 de culture (faite) d'Eberth R., 48 heures, provenant de la culture du contenu du sac d'un lapin précédent.

Va bien. Le 10 avril, prise de sang pour la séro-réaction, éprouvée le 12, sur Eberth R de série et Eberth R, ayant passé par péritoine en sac :

1° Eberth R., de passage.

A 1/20, après 24 heures, précipité caractéristique avec belle clarification ;

A 1/50, précipité caractéristique, mais peu abondant, très peu de clarification ;

A 1/100, pas de différence avec le témoin ;

2° Eberth R. de série.

A 1/20, 1/50, léger précipité, rien à 1/100.

Donc, l'Eberth de passage est mieux agglutiné que l'Eberth R. de série, par le sérum de ce cobaye.

Sacrifié le 24 avril. Autopsie : rien d'anormal. Le sac est entouré de membranes fibrineuses très étendues. L'examen direct de son contenu fait voir de petits bacilles, mobiles. On fait lesensemencements ordinaires. La sérosité péritonéale et le sang sont stériles. Le contenu du sac cultive très bien ; l'examen microscopique montre des éléments bacillaires, correspondant au type Eberth. Cette culture donne

une teinte vineuse, sur la gélatine de Wurtz, ainsi qu'en lactose.

Le contenu du sac est retiré avec précaution et injecté à la dose de deux tiers de centim. cube, sous la peau d'un cobaye de 210 gram. Le 25, son état général est mauvais, avec œdème considérable, des frissonnements et de la sensibilité de l'abdomen. Le 26, il est trouvé mort. Le sang donne une culture abondante des bacilles d'Eberth ; éprouvé sur bouillon lactosé, ce bacille possède une réaction neutre.

On voit que la culture enfermée dans le sac a acquis un haut degré de pouvoir infectant. En effet, à la même dose, une culture d'Eberth n'ayant pas passé par sac, injectée sous la peau du cobaye, est insuffisante à le tuer, voire même à l'indisposer : l'animal survit.

Expérience VIII

Le 23 avril, un cobaye de 370 gram. reçoit un sac contenant 1 c. c. de culture d'Eberth R, 48 heures.

Le lendemain au matin, état général médiocre avec œdème au niveau de la plaie. Il meurt dans l'après-midi.

À l'autopsie, on trouve une congestion à peu près générale de l'intestin, extrêmement intense, au niveau de la grande courbure de l'estomac. Un léger exsudat fibro-purulent à la face convexe du foie, moins prononcé à la rate. Le sac est retrouvé adhérent à la paroi abdominale par un filament fibrineux. On fait lesensemencements ordinaires. Toutes les humeurs sont fertiles avec des bacilles correspondant aux types coli ou Éberth. Le bacille du contenu ne fait pas fermenter le lactose. La culture de la sérosité, au contraire, acidifie le bouillon lactosé.

Le contenu du sac injecté directement sous la peau d'un

cobaye de 250 gram. à la dose d'un centim. cube et quart détermine au bout de vingt-quatre heures, la mort de l'animal dont les humeurs sont fertiles en bacilles semblables aux précédents. Pour comparer le pouvoir infectant, on fait une injection hypodermique avec la culture du même bacille n'ayant pas passé par sac ; l'animal meurt dans quatre jours. D'une autre part, la culture provenant du contenu du sac est injectée à la même dose que le contenu de l'expérience congénère à un cobaye qui résiste très bien. Il semble bien que le contenu du sac avait un pouvoir toxique supérieur à une culture ordinaire.

Expérience IX

Cobaye de 300 gram. reçoit le 11 mai un sac dans lequel nous transportons le contenu d'un sac ayant séjourné pendant trente-cinq jours dans le péritoine d'un autre cobaye (Eberth) ¹.

Va bien les premiers jours ; le 16, état général médiocre, frissonnements. Mort le 17.

Autopsie. — Intestin rempli de matières liquides ; quelques plaques de Peyer augmentées de volume et pâles. Viscères normaux. On fait les ensemencements habituels. La culture du sang contient des bacilles type Eberth, de longueur inégale, assez fins ; celle de la sérosité péritonéale, des bacilles semblables, seulement de forme plus longue. Le bacille du sac ne fait pas fermenter le lactose. Ce bacille présente une réaction agglutinative médiocre avec les sérums étalons (Eberth et Coli) du laboratoire, il est sensiblement moins agglutiné par le sérum Eberth que le bacille correspondant n'ayant pas passé par le sac.

¹ Ce Cobaye avait reçu un sac garni avec une culture de Eberth 1,48. Il était mort au bout de 3 jours accidentellement avec issue de l'intestin.

Expérience X

Cobaye de 360 gram. Reçoit le 25 mai un sac avec de la culture d'Eberth 1,48.

Le 24, état général bon. Temp. matin, 38°,4; temp. soir, 38°8.

25. Reste immobile. légère dyspnée, sensibilité de l'abdomen. Temp. soir, 4°,4.

26. Même état. Temp. matin, 40°,9; temp. soir, 40°,9.

27. Même état. Temp. matin, 40°,5; temp. soir, 40°,4.

28. Même état. Poil hérissé, a maigri (230 gram.). Temp. matin, 40°,1; temp. soir, 4°,3.

29. Même état. Temp. matin, 39°,6; temp. soir, 38°,5.

Mort le 30 mai. Autopsie. Un peu de pus dans la plaie, mais superficiellement. Sac adhérent à quelques anses de l'intestin et au mésentère, qui est congestionné. L'intestin porte quelques taches ecchymotiques aux endroits où il a été en contact avec la tubulure du sac.

La rate est très grosse, portant sur la surface un léger dépôt de fibrine. Les reins sont manifestement malades: petits foyers pâles, disséminés, séparés par des zones congestionnées. Sur le rein droit un de ces foyers atteint une forte dimension faisant penser à un petit abcès en voie de formation. On note un épanchement péricardique trouble, laiteux.

La culture de la sérosité péritonéale donne des bacilles se rapprochant plutôt du type du bacille intestinal. Celle du sang a les mêmes caractères. La culture du contenu ne fait pas fermenter le lactose. Le bacille contenu dans la sérosité péritonéale fait fermenter le sucre de lait.

Le contenu du sac traité par le chloroforme est injecté à la dose de 0^{cc}25 dans les veines d'un cobaye qui le supporte très bien.

ENSEMENCEMENT EXTEMPORANÉ

Expérience XI

Cobaye de 450 gram. On introduit, le 4 mai, dans son péritoine un sac contenant 2 centim. cubes de bouillonensemencé avec Eberth 1.

Va bien les premiers jours. Le 8, état général médiocre; le 9, très malade, meurt dans l'après-midi.

Autopsie. Légère congestion de l'intestin contenant du liquide diarrhéique. On trouve autour du sac une mince membrane couenneuse. Son contenu fait voir au microscope de nombreux bacilles les uns courts, les autres plus longs que d'ordinaire. 1 centim. cube de ce liquide, injecté sous la peau du cobaye, ne produit que des lésions locales. Les humeurs sont fertiles. La culture de la sérosité péritonéale contient des bacilles de différente longueur, fins, type Eberth. Celle du contenu du sac contient des bacilles moins variés de longueur, un peu plus épais. Cette dernière fait virer au rouge le bouillon lactosé. Le bacille du contenu s'agglutine bien au 20° par les sérums étalons du laboratoire, toutefois mieux avec le sérum Eberth.

Expérience XII

Un cobaye de 380 gram. reçoit, le 16 mai, un sac rempli de 2 centim. cubes de bouillon,ensemencé avec Eberth 1 (provenant de la culture du contenu d'un sac précédent).

Le 19, reste immobile. Temp. 40°,3; le 21, maigrît; dyspnée, poil hérissé. Temp. 41°,2; le 22, état général mauvais, abdomen douloureux. Temp. matin, 40°,8; temp. soir, 40°,9;

le 23, même état. Temp. matin, 40°,6; temp. soir, 40°,2; le 24, temp. matin, 40°,4; temp. soir, 39°,9; le 25, va mieux; à partir de cette date sa température ne dépasse pas 39°,9, et il paraît se rétablir.

L'animal est sacrifié le 3 juin.

A l'autopsie, on trouve un petit abcès localisé entre la paroi abdominale et le sac. Ce dernier est entouré d'une membrane fibrineuse d'une épaisseur très considérable avec laquelle l'intestin a contracté de solides adhérences. En incisant cette coque fibreuse on tombe sur la paroi du sac tapissée d'une couche caséuse, formée exclusivement de globules blancs polynucléaires avec de rares bacilles, identiques aux bacilles du sac (se décolorant par le Gram). — La paroi du sac est fissurée, et en effet, en examinant le contenu entre lame et lamelle, on voit de très nombreux leucocytes et des bacilles en petite quantité. Le sang et la sérosité restent stériles. La culture du contenu du sac est abondante. Le bacille qu'elle donne n'acidifie pas le bouillon lactosé. L'intestin ne présente pas de lésions locales, sauf la congestion. La rate est moyennement grosse. La réaction phagocytaire est intense; il n'y a pas d'infection secondaire, vu la stérilité des humeurs, ce qui est peut-être en rapport avec la forte réaction globulaire.

Le bacille du contenu du sac est très bien agglutiné, à 1/20, 1/100, avec une clarification très belle à 1/20 et de la même façon par les deux sérums étalons du laboratoire (sérum Coli et sérum Eberth).

Expérience XIII

Le 29 mai, on place dans le péritoine d'un cobaye de 380 gr. un sac contenant du bouillonensemencé avec Eberth 1. L'animal ne présente pas d'élévation de température, mais

diminue rapidement de poids (220 gram); le 4 juin au matin, il était en hypothermie 35° 8 et meurt dans l'après-midi.

On retire facilement le sac, qui est libre dans le péritoine. L'intestin est très congestionné, renfermant des matières liquides. La rate est un peu augmentée de volume, de couleur normale. Poumons sains. Vésicules séminales très tuméfiées. Le contenu du sac examiné entre lame et lamelle fait voir des éléments bacillaires, mobiles, d'inégale longueur. Le sang et la sérosité péritonéale cultivent sur agar. La culture du contenu et de la sérosité ne fait pas fermenter le lactose.

Le bacille du contenu du sac est mieux agglutiné avec le sérum Eberth que le sérum-coli.

EXPÉRIENCES FAITES AVEC LE B. COLI

LAPINS

CULTURE FAITE

Expérience I

Le 13 novembre, on introduit dans le péritoine d'un lapin un sac contenant 2 centim. cubes de culture de coli Z datant de 48 heures.

La température a atteint une seule fois 40° 6 le neuvième jour après l'opération; les jours suivants, elle tombe à 39° 5, 39°; à aucun moment on n'a pu observer de la diarrhée.

Le 21 novembre, l'animal est trouvé mort. Autopsie. La paroi abdominale est le siège d'une légère suppuration.

L'intestin grêle présente de nombreuses plaques de Peyer augmentées de volume et congestionnées. Sur un point de l'intestin on aperçoit un petit foyer purulent communiquant avec la lumière de l'intestin par un petit pertuis.

Le sac repose sur le gros intestin, très adhérent à ce dernier. Il est enveloppé d'une membrane couenneuse blanc-jaunâtre, épaisse d'un millimètre, lui formant une véritable carapace. Au microscope on voit qu'elle est exclusivement formée de globules blancs.

Le contenu du sac cultive abondamment sur agar et sur gélatine, en donnant des colonies caractéristiques du coli : étalées, transparentes, dentelées; en effet, l'examen micros-

copique et la réaction acide en sont les preuves. La sérosité péritonéale est stérile. Le sang pousse en colonie médiocre, contenant de petits bacilles se décolorant par le Gram ; insuccès dans les réensemencements de cette culture.

Expérience II

Un lapin pesant 1,750 gram. reçoit, le 6 décembre, un sac contenant 1 centim. cube de culture de coli Z, 48 h., provenant de l'expérience précédente, ce qui constitue un deuxième passage.

L'animal présente de la diarrhée pendant toute la durée de l'observation avec de l'amaigrissement et une température très peu élevée.

Le 13 décembre, l'animal meurt. Autopsie. Péritoine sain ; pas d'épanchement. Le gros intestin est considérablement dilaté. Rate de volume normal et de couleur normale ; foie, rien de particulier ; poumons légèrement congestionnés d'une manière uniforme ; pas d'épanchement dans la plèvre. On examine avec soin l'intestin, le contenu en est liquide, congestion modérée des parois. Plaques de Peyer vues par transparence d'aspect normal.

Le sac ne possède pas de membranes enveloppantes, il est presque libre. Le contenu du sac est légèrement louche, aussi abondant peut-être qu'au moment de l'opération.

Le sang reste stérile. La culture du contenu est riche en bacilles, qui donnent des colonies caractéristiques du coli sur gélatine et font fermenter le lactose..

Expérience III⁵.

⁵ Le sujet de l'expérience III est mort d'une infection streptococcique.

Expérience IV.

Le 16 mars un lapin de 1,560 gram. reçoit un sac contenant 1cc. de culture de coli 3 (2^e passage en sac).

La température oscille entre 39°,4 et 39° pendant la semaine qui suit l'opération, avec de la diarrhée qui dure 6 jours et une perte considérable de poids (1,260 gram.). Le 26 mars, prise de sang pour la sero réaction, résultats négatifs.

Mort le 1^{er} mai. Autopsie. Quelques plaques de Peyer légèrement congestionnées, viscères normaux. Le sac possède une membrane fibrineuse très vascularisée, la couche caséuse lui forme une coque épaisse et adhérente. Le sang donne une culture stérile. La sérosité péritonéale est stérile pendant quarante-huit heures, au troisième jour on voit apparaître une colonie unique, constituée par des cocci; infection survenue probablement pendant l'ensemencement. La culture du contenu est pure, faisant fermenter le lactose.

ENSEMENCEMENT EXTEMPORANÉ.

LAPINS.

Expérience V.

Un lapin de 2,500 gram. reçoit, le 10 novembre, un sac rempli de bouillon et ensemencé avec coli Z. La température varie de 39° à 40°.

L'animal est sacrifié le 6 décembre. A l'ouverture de l'abdomen, on trouve le sac un peu déplacé, très adhérent à l'intestin. Il est enveloppé d'une fausse membrane jaunâtre

le recouvrant complètement. Entre cette membrane et la paroi du sac, on note l'existence d'une masse caséuse, jaune, mollassée. A l'examen microscopique, on voit qu'elle est formée exclusivement de globules blancs. Le sac est très diminué de volume. Il n'y a rien de remarquable sur l'intestin, la rate et le foie. Le contenu du sac donne d'abondantes colonies ayant les caractères du coli et possède la propriété de faire fermenter le lactose. La culture du sang est stérile.

Expérience VI.

Un lapin du poids de 2,150 gram. reçoit, le 29 novembre, un sac de collodion rempli de bouillon et ensemencé avec du coli Z.

Le 30, température 40°,3 avec un peu de diarrhée ; le 1^{er} décembre, elle tombe à 39°. L'animal se trouve dans un bel état d'embonpoint, aussi est-il sacrifié le 4 janvier. Le sac est fortement adhérent au gros intestin, muni de sa double enveloppe fibrineuse et leucocytaire. L'intestin grêle présente des plaques de Peyer plus grosses que normalement. Foie et rate normaux. Rien d'anormal sur les autres organes. Avec le contenu louche du sac on fait une préparation entre lame et lamelle ; elle fait voir de nombreux éléments bacillaires mais moins abondants qu'une culture en bouillon terminée.

On fait d'une part l'épreuve de séro-réaction avec le sérum du sang recueilli à l'autopsie et d'autre part avec des leucocytes recueillis sur les parois du sac. Nous donnons le résumé des résultats de cette double épreuve. Le sérum de ce lapin est très agglutinant pour coli Z (race qui a été dans le sac), et il ne l'est pas ou d'une façon insignifiante pour coli 1 (race très agglutinable). Les leucocytes formant

le magma autour du sac paraissent contenir une substance agglutinative, puisqu'on a eu de l'agglutination là où ils étaient présents, mais n'ont donné par macération dans l'eau salée qu'un liquide très peu agglutinant.

Expérience VII.

Le 13 décembre, on introduit dans le péritoine d'un lapin de 2,500 gram. un sac contenant 1,5 cc. de bouillonensemencé avec le contenu du sac de l'expérience du 6 décembre (2^e passage).

L'animal ne présente pas une température élevée. Comme il augmente de poids, on le sacrifie le 4 janvier. Au niveau de la suture on voit un peu de pus. Le sac est englobé d'une membrane fibreuse en voie de vascularisation, dont partent de nombreux filaments fibrineux s'étendant au loin. Entre cette membrane et la paroi du sac on trouve encore une petite quantité de matière caséuse. En retirant le sac on s'aperçoit qu'il est fissuré. Son contenu est examiné au microscope ; on y trouve une grande quantité de globules blancs, notamment des polynucléaires et un très grand nombre de particules, de forme indécise, animées de mouvement brownien. Après coloration au violet phéniqué et à la thionine, et avec un fort grossissement (objectif 1/18, immersion, oculaire 6) on n'y distingue aucun bacille. Il est certain que le sac a été ouvert pendant la vie de l'animal, et les leucocytes qui ont pénétré ont fait leur œuvre de destruction. La culture du sang reste stérile.

On éprouve le pouvoir agglutinatif du sérum de ce lapin et de la couche caséuse. Le sérum est agglutinant pour coli Z, et ne l'est pas pour coli 1. La matière caséuse du sac n'a pas cédé à l'eau salée de produits agglutinatifs.

Le 10 janvier, ce même sérum est éprouvé sur d'autres races coliennes (coli R et coli 2). Il est moins agglutinatif pour coli R que pour coli Z, mais il l'est davantage pour coli 2.

Expérience VIII.

Lapin de 2,220 gr. Reçoit, le 3 février, un sac de collo-dion contenant du bouillonensemencé avec coli 3.

Sa température n'est pas élevée, elle varie de 39° à 39°8 pendant cinq jours, avec un peu de diarrhée qui a duré quatre jours; diminue de poids (1,350 gr.).

Le 8 février, on fait la séro-réaction sur coli 3; résultats négatifs.

Il est trouvé mort le 10 mars. Autopsie. On retrouve le sac avec sa double enveloppe, paraissant intact. L'intestin grêle présente cinq ulcérations d'un très petit volume, entourées d'un bourrelet rouge, inflammatoire, siégeant sur le bord libre de l'intestin à côté des plaques de Peyer. Quelques-unes de ces dernières sont augmentées de volume et fort congestionnées. Viscères normaux. — Toutes les cultures habituelles sont fertiles. L'examen microscopique ne peut faire différencier les microbes humeurs avec celui du sac. En outre, l'examen direct du contenu du sac fait voir de très nombreux globules blancs et de rares bacilles. Le sac a dû se rompre, d'où infection.

Expérience IX.

Le 19 mars, on loge dans le ventre d'un lapin de 2,220 gr. un sac rempli de bouillon etensemencé avec coli 3. Le 12 avril, prise de sang en vue de la séro-réaction; pas d'agglutination à l'œil nu. Sacrifié le 30 avril.

Autopsie. — Quelques plaques de Peyer saillantes. Le sac est entouré d'une membrane fibrineuse très vascularisée. Son contenu est injecté sous la peau d'un cobaye qui se rétablit complètement après avoir présenté des lésions locales. La culture du contenu est abondante; elle fait fermenter le lactose. La sérosité péritonéale est stérile. Le sang donne quelques petites colonies sur agar.

EXPÉRIENCES SUR LES COBAYES

CULTURE FAITE

Expérience X.

Le 11 janvier, on place dans le péritoine d'un cobaye de 590 gram. un sac rempli de culture de coli Z (deuxième passage). Température 39° pendant 7 à 8 jours; pas de diarrhée. Diminue de poids (495'gr.); au moment où il commence à augmenter, on le sacrifie. Rien d'anormal à l'autopsie. Le sac est adhérent à l'intestin, la couche caséuse est minime. Le sang et la sérosité péritonéale sont stériles au bout de 48 heures. Le bacille du sac donne une réaction acide en lactose. Sur pomme de terre, il donne une colonie en couche épaisse, colorée en jaune verdâtre, purée de pois, et très visible.

Expérience XI.

Le 8 mai, on loge dans le ventre d'un cobaye de 310 gr. un sac contenant 2 cc. de culture de coli 4. Se porte bien les premiers jours; le 14, état général médiocre; le 15, reste immobile, poil hérissé, maigrit (220 gr.).

Mort le 16. Autopsie. Sac sans enveloppes, intact, pro-
duisant sur l'intestin sur lequel il reposait des taches

ecchymotiques, des lésions locales. La culture du contenu contient des bacilles ayant tous les caractères du coli, fait fermenter le sucre de lait. La sérosité péritonéale est riche en bacilles, type coli, avec quelques bacilles plus gros, plus fortement colorés (impureté). Le sang est fertile aussi, bacille semblable à celui de la sérosité.

Expérience XII.

Un cobaye de 450 gram. reçoit, le 23 mai, un sac contenant 1,5-2 cc. de culture de coli 4. A partir du troisième jour, élévation de la température, qui atteint 41°1 durant deux jours, pour tomber à 40° et 39°5 avec un état général médiocre; diminution de poids (350 gr.).

Le 6 juin, prise de sang en vue de la séro-réaction.

Pas de précipité avec le coli 4. Le coli R, au contraire, est bien agglutiné par ce sérum : précipité caractéristique à 1/20 1/100, avec belle clarification.

Le 11 juin, il reçoit 3 cc. de culture de coli 4, 48 heures en péritoine pour voir s'il était immunisé par les produits sortis du sac. Il est mort le 12 juin dans le même délai qu'un cobaye témoin et deux autres cobayes, dont l'un porteur d'un sac à bouillon et l'autre à sac stérilisé, dont il sera question plus loin; tous meurent le lendemain dans le même délai.

ENSEMENCEMENT EXTEMPORANÉ

Expérience XIII.

Cobaye de 400 gram., reçoit le 22 mai un sac de collodion contenant du bouillonensemencé avec coli 4 (2^e passage en sac). — Les trois premiers jours, il va bien; le 4^e jour, il a des frissonnements, reste immobile, triste. Temp. matin,

40°,1 ; temp. soir, 40°,4 ; le 27, même état. Temp. matin, 40°, 9, temp. soir, 41°, puis la température se maintient à 40° pour tomber, le 31 mai, à 38°,5. Il a beaucoup maigri (270 gram.).

Mort le 1^{er} juin. On trouve le sac caché sous le foie, entouré par quelques anses, qui y ont contracté de solides adhérences. L'intestin est congestionné, rempli de liquide diarrhéique, avec 2 à 3 plaques de Peyer très tuméfiées. Les reins sont le siège de congestion disséminée. Le foie présente quelques petits abcès miliaires. Dans les poumons, présence d'infarctus. La rate est très grosse et foncée. Toutes les humeurs sont fertiles. Les bacilles de trois cultures (sérosité péritonéale, sang et contenus) ont la même morphologie : ils sont courts, assez épais, d'égale longueur. La culture du contenu fait fermenter le lactose ; celle du sang ne le fait pas fermenter. Les bacilles du contenu et de la sérosité, portés sur pomme de terre, donnent des trainées très visibles, purée de pois. On fait l'épreuve d'agglutination de ces deux derniers bacilles avec les sérums étalons du laboratoire. Le bacille du contenu est agglutiné de la même façon par les deux sérums ; celui de la sérosité l'est un peu moins, pour tous les deux également.

Le contenu du sac est traité par quelques gouttes (3-4) de chloroforme. Après s'être assuré qu'il est stérile après vingt-quatre heures, on l'injecte le 5 juin à la dose de 1 centim. cube sous la peau d'un cobaye de 400 gram. Le 6, le cobaye est triste, poil hérissé, tympanisme a eu des vomissements ; il était en hypothermie 35°,3.

Mort le 7 juin. Les cultures qu'on fait avec la sérosité péritonéale et le sang sont fertiles ; présence de bacilles, courts, assez épais, d'égale longueur. Il paraît donc que le liquide injecté n'était pas complètement stérile.

COBAYES TÉMOINS.

Le 26 mai, un cobaye de 380gram., reçoit un sac ne contenant que de l'eau stérilisée. Il se porte bien et n'a présenté qu'une fois une température de 39°6; elle tombe ensuite à la normale.

Mort le 12 juin à la suite d'une injection péritonéale de coli 4 (témoin).

Le 27 mai, un cobaye de 500 gram. reçoit un sac contenant du bouillon neutre. Trois jours après, sa température commence à s'élever pour atteindre 40°,9 et tomber ensuite progressivement à la normale. L'animal se rétablit complètement.

Le 8 juin, prise de sang en vue de la séro-réaction. Réaction nette avec coli R et Eberth 1, négative avec coli 4.

Le 11 juin, reçoit en péritoine 3 centim. cubes de coli 4, pour servir comme témoin à l'expérience XII.

CHAPITRE III

Expériences sur les propriétés osmotiques des sacs de collodion.

Nous avons vu dans le chapitre d'Historique que tous les expérimentateurs qui se sont servis de la méthode des sacs en collodion, admettaient *a priori*, que la paroi du sac était infranchissable aux leucocytes et aux microbes, et qu'elle se laissait traverser très facilement par toutes les substances dissoutes. Cependant il est de notre devoir de dire que nous n'avons pas pu trouver, dans tout ce qui a été écrit sur les sacs de collodion, des expériences *in vitro* établissant d'une façon péremptoire les propriétés physiques attribuées à la membrane de collodion¹. Tous admettent sans conteste avec Nocard que « la paroi du sac oppose une barrière infranchissable aux éléments figurés et qu'elle offre une paroi osmotique parfaite ». Or, si l'on voulait analyser le sens général et vague qu'on donne au mot « osmose », on se trouverait en présence d'un grand nombre de degrés de perméabilité de ces membranes osmotiques, que les physiiciens classent : 1° en membrane filtrante qui arrête les éléments figurés, et qui laisse passer toutes les substances dissoutes sans distinction, jusqu'à la membrane semi-perméa-

¹ Podbelsky a étudié à ce point de vue la membrane du roseau.

ble, qui ne laisse passer que l'eau. Entre ces deux extrêmes toute membrane doit occuper sa place correspondante.

Il est de toute nécessité que la membrane de collodion ait son rang dans cette échelle, il s'agit seulement de savoir exactement son degré de perméabilité. C'est ce qui n'a pas été fait, à ce que nous sachions.

Nous avons été surpris des résultats que nous obtenions de nos expériences, que nous avons faites, nous basant sur le principe admis dans tous les laboratoires que le collodion devait laisser passer les toxines du bacille d'Eberth et Coli.

De là, nous nous sommes demandé s'il fallait, en effet, considérer la paroi du sac comme « une paroi osmotique parfaite », ce qui équivalait à une paroi filtrante.

Ceci nous a amené à instituer les expériences suivantes :

Pour nous édifier complètement sur la diffusion des toxines à travers la paroi d'un sac de collodion, nous nous sommes adressé, suivant les conseils de M. le professeur Rodet, à une toxine parfaitement connue, tant au point de vue de sa toxicité que de sa composition chimique. Dans ce but nous avons mis, dans un sac de collodion de Paris, une solution de 2 centim. cubes de toxine diphtérique contenant 0^{gr},50 de toxine brute, dose dix fois mortelle pour le cobaye. Le sac exactement fermé est introduit comme à l'ordinaire dans le péritoine d'un cobaye de 600 gram. le 5 juin. Or, le 10 juin, il allait aussi bien que possible. Nous faisons remarquer que ce délai dépasse déjà de beaucoup la période d'incubation et d'empoisonnement, que s'il y avait un passage complet et assez prompt de la toxine diphtérique, l'organisme du cobaye devait en ressentir plus tôt l'effet.

Afin de nous assurer qu'avec telle dose l'intoxication diphtérique était largement possible, par la voie péritonéale nous avons inoculé le 7 juin dans le péritoine d'un cobaye de 500 gram. une solution de toxine diphtérique, corres-

pendant à 0^{gr},25 de toxine brute. On voit que la dose est de moitié moindre que celle contenue dans le sac du cobaye précédent, c'est pour être absolument certain que la dose du sac est largement toxique. Ce cobaye meurt le 9 juin dans la matinée.

Voici deux expériences qui se complètent et qu'il serait intéressant de répéter. Quoi qu'il en soit, bornons-nous à constater que la toxine diphtérique ne traverse pas la paroi du sac en quantité suffisante, pour déterminer l'intoxication aiguë.

Nous avons voulu nous rendre compte par des expériences *in vitro* si la paroi du collodion laisse passer les substances dissoutes et en quelle quantité. Pour cela, nous avons fait trois sacs, remplis d'eau distillée, et chacun d'eux plongé dans le liquide sur lequel on voulait expérimenter : glucose, sérum, solution de peptone. Au bout de 24 ou 48 heures, on a cherché dans le sac les réactions correspondantes de chacune des matières contenues dans le liquide qui entourait le sac. Pour cette partie de nos expériences, nous avons eu recours à la connaissance technique de M. le professeur Moitessier, qui s'est mis très obligeamment à notre disposition.

Voici les résultats auxquels nous sommes arrivés.

Le glucose, après 24 heures, avait passé dans le sac, dont le liquide réduisait fortement la liqueur de Fehling.

Les matières albuminoïdes du sérum sanguin avaient déjà traversé le sac au bout de 24 heures en quantité notable ; le liquide du sac donnait, avec l'acide azotique, le réactif picrocitrique, le réactif de Scheibler (acide phosphotungstique) un anneau opaque très visible, quand on faisait tomber quelques gouttes de l'un ou de l'autre de ces réactifs sans mélanger les couches.

La richesse en albuminoïdes du contenu du sac était environ 500 fois moindre que celle du sérum.

Quant aux peptones, leur passage à travers les parois du sac est à peu près certain, étant donné que les matières albuminoïdes, qui ont un poids moléculaire plus élevé, traversent le sac ; toutefois, nous n'avons pu déceler leur présence dans le liquide du sac. Il est probable que la quantité qui a passé n'était pas encore suffisante pour donner les réactions des peptones qui sont moins sensibles que celles des matières albuminoïdes.

CHAPITRE IV

Comme nous le disions précédemment, nous avons employé, dans nos expériences, soit des sacs remplis de cultures faites (de 48 heures) du bacille d'Eberth ou de coli, soit des sacs remplis de bouillon ou d'eau stérilisée qu'on ensemençait à l'instant même. L'observation du sujet, ainsi que sa destinée, démontrent que l'organisme a réagi différemment dans l'un ou l'autre cas. Récapitulons ce que nous ont donné, d'une part, ces lapins; d'autre part, les cobayes.

Dans la catégorie des lapins traités avec une culture terminée d'Eberth, on relève deux survies, deux morts en 7 jours, avec le sac ouvert (sans parler de l'expérience compliquée d'infection mixte). L'ensemencement extemporané a donné une mort tardive.

Dans le groupe de lapins traités par le coli, la culture faite a occasionné trois morts, dont deux en 6 et 7 jours, et une troisième en 45 jours. L'ensemencement immédiat a, à son actif, 4 survies, dont une avec sac ouvert, et une mort en 35 jours.

D'une façon générale, les sacs à culture faite ont été moins bien supportés par les lapins que les sacs à ensemencement extemporané, puisque des lapins traités de cette dernière manière ont souvent survécu.

Faut-il penser qu'en introduisant une culture faite dans un sac de collodion, les toxines qui se trouvaient déjà toutes

produites dans la culture traversaient d'emblée la paroi du sac et allaient impressionner l'organisme, après avoir subi peut-être une exaltation de leur pouvoir actif dans l'intérieur du sac ; tandis que, avec l'autre méthode, ces mêmes produits toxiques seraient versés dans l'organisme, au fur et à mesure de leur production, et, par suite, moins brutalement. Il est plus probable que cette différence tient à ce que nous n'avons pas affaire aux mêmes produits dans le cas d'une culture *in vitro*, et dans le cas d'une culture qui s'opère dans le sac. Quoi qu'il en soit de l'interprétation, le fait est que le bouillonensemencé au moment de la mise en sac a été bien mieux supporté que la culture faite, du moins par les lapins.

Quant aux cobayes, sauf deux survies, presque tous sont morts d'auto-infection intestinale ; nous n'avons pas observé de mort spontanée sans fertilité d'humeurs. Nous discuterons plus loin l'interprétation de ce fait.

On a pu voir que le séjour longtemps prolongé du sac dans le péritoine du sujet à expérience faisait acquérir au sac de collodion une double enveloppe organique ; une première fibrineuse, quelquefois assez épaisse (plus épaisse dans le cas de rupture du sac), formant une véritable coque à ce dernier, et une seconde en dedans de la première, caséeuse, molle, blanc-jaunâtre, que le microscope trouve constituée par des leucocytes exclusivement, avec des bacilles lorsqu'il y a rupture. La formation de cette couche peut être facilement expliquée par les propriétés chimiotaxiques positives des toxines contenues dans le sac ou en voie de diffusion ; les globules blancs attirés ainsi vers la paroi du sac et ne pouvant y pénétrer, vu l'imperméabilité du collodion aux éléments figurés, forment ce magma autour de lui.

Il est à remarquer que cette réaction phagocytaire est beaucoup plus accusée chez les lapins que chez les cobayes ; la

plupart du temps, cette double enveloppe manquait chez ces derniers. Avec les mêmes sacs, les mêmes cultures, l'égal séjour dans le péritoine on trouve une réaction leucocytaire considérable ou minime selon les sujets (lapins ou cobayes).

Nous ne saurions donner d'interprétation ferme de ce fait, il peut s'agir de différence dans la toxicité des cultures, dans la perméabilité du sac ou encore dans la différence de réaction individuelle du sujet.

Le résultat le plus frappant de nos expériences, c'est qu'on n'observe jamais d'intoxication pure, aiguë, mais quelquefois la mort arrive par intoxication lente ; nous pensons que c'est là la cause de la mort plus ou moins tardive des lapins sans infection (avec stérilité des humeurs).

Nous avons vu que chez les cobayes la mort arrive généralement avec une auto-infection dont le point de départ est certainement l'intestin, étant donnés les caractères que nous avons trouvés aux bacilles des humeurs. Même dans ce cas, il nous paraît vraisemblable qu'il intervient une intoxication partie du sac ; il est vrai qu'on pourrait accuser l'altération des parois de l'intestin du voisinage du sac, mais les cobayes témoins ont les mêmes raisons pour avoir des lésions de voisinage, sans que la mort s'en suive.

L'absence d'intoxication pure aiguë ne peut recevoir que deux interprétations : ou bien il ne se fabrique pas de toxines actives dans le sac, ou bien elles ne le traversent pas. Avec les idées régnantes sur les propriétés physiques de la paroi des sacs de collodion, il faudrait admettre la première interprétation. Mais nos expériences *in vitro*, que nous avons relatées dans le chapitre précédent, nous montrent que les matières albuminoïdes et les peptones traversent difficilement et en faible quantité la paroi du sac, et par suite des toxines d'une nature chimique peuvent se former dans le sac sans produire d'effet, et nous croyons, en

•

effet, que le contenu du sac subit une certaine modification, favorable précisément à l'élaboration des produits toxiques. Nous avons donc été amené à mettre en évidence la toxicité du contenu des sacs. Ainsi le contenu du sac de l'expérience VII (cobayes série Eberth) injecté intégralement sous la peau d'un cobaye à la dose de deux tiers de centimètre cube est suffisant à amener la mort au bout de 24 h. Il en est absolument de même du contenu du sac de l'expérience VIII (cob. même série), à la dose d'un centimètre cube et quart. La culture en bouillon du premier bacille, n'ayant pas passé par sac, injectée à la dose correspondante à un cobaye est incapable de déterminer la mort du cobaye témoin ; la culture du second bacille amène la mort, mais seulement au quatrième jour. Ces expériences montrent que le contenu du sac de ces deux cobayes était doué d'un pouvoir infectant supérieur comparativement avec les cultures en bouillon de ces mêmes bacilles.

Ce résultat peut s'expliquer de deux manières ; on peut penser d'abord à l'exaltation de la virulence du bacille lui-même, ou bien à l'existence des produits vraiment toxiques. Or, en isolant le bacille du contenu du sac de l'expérience II par la culture, et en injectant cette dernière sous la peau d'un cobaye, on a vu qu'il n'était pas doué d'une grande virulence et que le sujet a survécu. Il nous semble qu'il est tout naturel d'admettre l'élaboration de produits toxiques, dans l'intérieur du sac et pendant son séjour dans le péritoine.

Nous avons cherché à éliminer, dans des essais sur la toxicité du contenu, l'intervention des bacilles vivants, en les tuant, soit en chauffant le liquide pendant une heure à 53°, soit en le traitant par le chloroforme. Le premier moyen ne nous a rien donné. Par le chloroforme nous avons obtenu un contenu ne renfermant plus de bacilles vivants (du moins,

l'ensemencement n'a pas donné de culture), c'est le contenu du sac de l'expérience.... que nous avons injecté dans le péritoine d'un cobaye à la dose de 1 centim. cube ; après un état général mauvais, il succombe en quarante-huit heures. Sa sérosité péritonéale est fertile en bacilles analogues au coli. Cette mort se rapporte plutôt à une infection qu'à une intoxication, mais néanmoins, ce cas est intéressant en ce que les bacilles devaient être en bien petit nombre dans le liquide, d'où l'on peut conclure qu'ils ont été exaltés dans leurs effets par l'action favorisante des toxines auxquelles il doit revenir, par suite, une part dans le résultat obtenu.

Nous croyons donc à l'existence d'une toxine élaborée dans le sac, plus active que celle qu'on voit se produire *in vitro* à la faveur de certains échanges qui peuvent s'opérer entre le contenu du sac et les humeurs de l'animal. Mais cette toxine ne traverse pas ou traverse d'une manière très médiocre la paroi du collodion.

Nous admettons, cependant, que des substances sortent du sac, capables d'exercer certaines actions toxiques, d'après les remarques que nous avons faites plus haut pour expliquer l'intoxication lente des lapins et l'auto-infection des cobayes. Mais ce ne sont pas les éléments toxiques les plus actifs, ce ne sont peut-être même pas des substances spécifiques, attendu que nous avons vu qu'un sac garni de simple bouillon n'est pas sans déterminer certains troubles (expérience du cobaye témoin).

Nous avons cherché à savoir si, parmi les matières qui traversent la paroi du sac, il s'en trouve qui soient capables de déterminer, soit la propriété agglutinative des humeurs, soit l'état d'immunité.

Dans nos premières expériences sur ce sujet, nous avons trouvé que le sérum d'un animal porteur d'un sac était agglutinant (voir exp. I) ; mais, par la suite, en répé-

tant ces essais sur plusieurs animaux, nous avons constaté que le résultat était parfois négatif. De là, concluons que les produits solubles capables de provoquer dans l'organisme la formation de l'agglutinine, peuvent traverser la paroi du sac, mais difficilement, d'une façon inconstante et jamais en grande quantité.

D'autre part, nous avons une fois éprouvé l'immunité d'un animal porteur d'un sac en injectant une culture dans le péritoine du bacille correspondant; on a vu plus haut le résultat (voir Exp. XII), le sujet n'était pas immunisé.

Nous concluons de tout ce qui précède que la paroi du collodion, sans être infranchissable à tous les produits solubles, est loin de se laisser traverser par tous. Il nous paraît certain qu'il se fait un triage et que la toxine proprement dite ne le traverse pas ou seulement insuffisamment pour manifester son activité.

On peut voir dans les belles expériences de MM. Metchnikoff, Roux et Salimbeni qu'un sac de collodion rempli d'une culture terminée et surtout d'un ensemencement immédiat de vibrion cholérique provoque un empoisonnement suraigu du sujet. Il faut donc croire que, dans le cas du vibrion cholérique, la matière toxique ou l'un des produits, et sans doute le plus actif, est précisément capable de par sa constitution chimique de traverser très facilement la membrane de collodion.

Nous avons vu dans l'historique qu'un des buts qu'on se proposait par l'emploi de cette méthode était la recherche de modifications que les microbes sont susceptibles de subir dans l'intérieur de l'organisme.

Sous ce rapport nous nous sommes demandé si les bacilles d'Eberth et coli par leur séjour dans le sac étaient modifiés dans leur virulence et leur pouvoir fermentatif. Au point de vue de la virulence, nous n'avons pas vu que le séjour dans

le sac leur imprimât une exaltation. Ainsi dans l'expérience II (cobaye, Eberth) à laquelle nous avons fait plus haut allusion, les bacilles isolés ne se sont pas montrés suffisamment actifs, d'autre part en faisant subir au bacille une série de passages successifs en sac, les effets ne se sont pas accrus.

En ce qui concerne le pouvoir de ferment dans toutes ces expériences avec le coli, le bacille retiré du sac faisait normalement fermenter le lactose. Quant aux expériences avec le bacille d'Eberth, presque toujours le bacille avait conservé ses propriétés négatives, n'acidifiant pas le bouillon lactosé. Dans un cas cependant, le bacille retiré d'un sac (expérience XI) acidifiait fortement le bouillon lactosé. Ce cas étant unique, nous ne pouvons pas tirer de conclusion ferme; nous devons cependant faire remarquer que ce bacille était mieux agglutiné par le sérum-Eberth que par le sérum-coli.

CONCLUSIONS

Une culture de bacille d'Eberth ou de bacille coli introduite dans le péritoine du lapin ou du cobaye dans un sac de collodion ne provoque pas d'intoxication aiguë. Nous pensons cependant que dans ces sacs les bacilles élaborent des matières toxiques plus actives que dans les cultures, mais celles-ci ne traversent pas la paroi du sac ou ne la traversent que d'une manière très imparfaite.

Une membrane de collodion est loin d'être également perméable aux divers corps en solution, elle se laisse très mal traverser par les matières albuminoïdes.

Un sac de collodion laisse ou ne laisse pas passer les produits toxiques des microbes selon leur composition.

La méthode des sacs de collodion nous paraît être un moyen d'apprécier la nature de ces produits; de décider s'il s'agit de toxine proprement dite (toxalbumine) ou de corps plus simples et de dissocier les divers éléments toxiques qu'un même microorganisme peut élaborer.

Vu et permis d'imprimer :
Montpellier, le 11 juin 1900.

Le Recteur,
A. BENOIST.

Vu et approuvé :
Montpellier, le 11 juin 1900

Le Doyen,
L. VIALLETON.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- CELLI et VALENTI. — Sur l'étiologie de la dysenterie. *Centralblatt für Bacteriologie* 21, IV, 1899, et *Semaine médicale* 1890.
- CHANTEMESSE. — Toxine typhoïde soluble, *Société de biologie*, 23, I, 1897.
- Congrès d'hygiène de Madrid.
- GILBERT. — Des poisons produits par le bacille intestinal d'Escherich. *Société de biologie*, 25 février 1893.
- LÉPINE et LYONNET. — Etude sur quelques effets de la toxine typhique chez le chien. *Revue de médecine*, nov. 1897.
- METCHNICOFF, ROUX et SALIMBENI. — Toxine et antitoxine cholérique. *Annales de l'Institut Pasteur*, mai 1896.
- NOCARD. — Sur les relations qui existent entre la tuberculose humaine et la tuberculose aviaire. *Annales de l'Institut Pasteur*, sept. 1898.
- NOCARD et ROUX. — Le bacille de la péripneumonie. *Annales de l'Institut Pasteur*, avril 1898.
- PODBELSKY. — Contribution à l'étude de l'immunité vis-à-vis du bacille subtilis. *Annales de l'Institut Pasteur*, juillet 1898.
- RODET. — Sur le pouvoir infectant de la toxicité des cultures des bacilles d'Eberth et Coli. Volume jubilaire de la Société de biologie, 1899.
- Société de biologie, 9 juillet 1893.
- Société de biologie, 16 juillet 1898.
- ROGER. — Etude sur la toxicité des produits solubles du bacille coli. *Archives de physiologie*, juillet 1893.
- SANARELLI. — Etudes sur la fièvre typhoïde expérimentale. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1892, pag. 11.
- SIRO TININ. — Die Übertragung von Typhusbacillen auf Versuchsthiere. *Zeitschrift für Hygiene*, 1886, Bd. pag. 465.
- VALLÉE. — Exaltation de la virulence dans les humeurs des animaux hyperimmunisés. *Société de Biologie*, 27, v. 98, pag. 432.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes chers Condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être Suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

